



PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of
Welthmann, et al.

Examiner:

Group Art Unit.: 1614

Application No.: 10/065,994

Filed: **December 9, 2002**

Title: **PYRIDINE-2,4-DICARBOXYLIC ACID
DIAMIDES AND PYRIMIDINE-4,6-
DICARBOXYLIC ACID DIAMIDES AND
THE USE THEREOF FOR SELECTIVELY
INHIBITING COLLAGENASES**

CERTIFICATE OF MAILING (37 CFR 1.8a)

I hereby certify that this paper (along with any referred to as being attached or enclosed) is being deposited with the United States Postal Service on the date shown below with sufficient postage as first class mail in an envelope addressed to the: Commissioner of Patents and Trademarks, Washington, D.C. 20231.

Date of Deposit March 21, 2003

Renee McGinnis
(Type or print name of person mailing paper)

Renee McGinnis
(Signature of person mailing paper)

Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

SUBMISSION AND REQUEST FOR ENTRY OF PRIORITY PAPERS 37 C.F.R. § 1.55(a)

Dear Sir:

Applicants submit herewith certified copy of DE 101 60 357.6 application, filed on December 8, 2001, for which priority is claimed in the above-identified application.

This submission and request for entry is being made to satisfy the requirements under 35 U.S.C. § 119. Please note that no fees are associated with the entry of the priority documents since they are being timely submitted prior to the date the issue fee is due.

Respectfully submitted,

George G. Wang, Reg. No. 41,419
Attorney/Agent for Applicant

Aventis Pharmaceuticals Inc.
Patent Department
Route #202-206 / P.O. Box 6800
Bridgewater, New Jersey 08807-0800
Telephone (908) 231-2843
Telefax (908) 231-2626

Aventis Docket No. DEAV2001/0073 US NP



BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

101 60 357.6

Anmeldetag:

08. Dezember 2001

Anmelder/Inhaber:

Aventis Pharma Deutschland GmbH,
Frankfurt am Main/DE

Bezeichnung:

Verwendung von Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamiden
und Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamiden zur selekti-
ven Inhibierung von Kollagenasen

IPC:

C 07 D, A 61 K

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 2. April 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Agurks

Verwendung von Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamiden und Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamiden zur selektiven Inhibierung von Kollagenasen

5

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamiden und Pyrimidin-4,6-dicarbon-säurediamiden zur selektiven Inhibition der Kollagenase (MMP 13). Die Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamide und Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamide können daher zur Behandlung degenerativer

10 Gelenkerkrankungen eingesetzt werden.

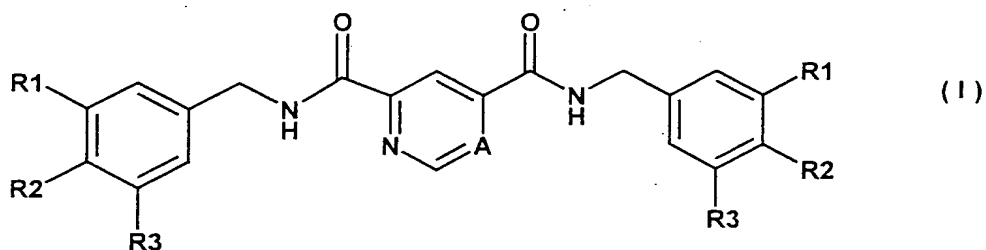
Es ist bekannt, dass Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamide und 2,4-substituierte Pyridin-N-oxide die Enzyme Prolin- und Lysinhydroxylase inhibieren und damit eine Hemmung der Kollagenbiosynthese durch Beeinflussung der kollagenspezifischen Hydroxylierungsreaktion bewirken (EP 0418797; EP 0463592). Durch diese Hemmung der Kollagenbiosynthese wird ein nicht funktionsfähiges, unterhydroxyliertes Kollagenmolekül gebildet, das von den Zellen nur in geringer Menge in den extrazellulären Raum abgegeben werden kann. Das unterhydroxylierte Kollagen kann außerdem nicht in die Kollagenmatrix eingebaut werden und wird sehr leicht proteolytisch abgebaut. Als Folge dieser Effekte verringert sich insgesamt die Menge des extrazellulär abgelagerten Kollagens.

In Erkrankungen wie Osteoarthritis und Rheuma findet eine Zerstörung des Gelenkes statt, besonders bedingt durch den proteolytischen Abbau von Kollagen durch Kollagenasen. Kollagenasen gehören zur Superfamilie der Metalloproteinasen (MP) bzw. Matrix-Metallproteinasen (MMP). MMP's spalten Kollagen, Laminin, Proteoglykane, Elastin oder Gelatin unter physiologischen Bedingungen und spielen daher eine wichtige Rolle im Knochen und Bindegewebe. Eine Vielzahl von verschiedenen Inhibitoren der MMP's, bzw. der Kollagenasen sind bekannt EP 0 606 046; WO94/28889). Nachteile der bekannten Inhibitoren der MMP's sind häufig die mangelnde Spezifität der Hemmung für nur eine Klasse der MMP's. Daher hemmen die meisten MMP-Inhibitoren mehrere MMP's gleichzeitig, weil die katalytische Domäne der MMP's eine ähnliche Struktur aufweist. Demzufolge wirken

die Inhibitoren in unerwünschter Weise auf viele Enzyme, auch solche mit vitaler Funktion ein (Massova I., et al., The FASEB Journal (1998) 12, 1075-1095).

In dem Bestreben, wirksame Verbindungen zur Behandlung von Bindegewebs-
erkrankungen zu finden, wurde nun gefunden, dass die erfindungsgemäß
eingesetzten Verbindungen starke Inhibitoren der Matrix-Metalloproteinase 13 sind,
während die erfindungsgemäß eingesetzten Verbindungen im wesentlichen
unwirksam sind bei den MMPs 3 und 8.

Die Erfindung betrifft daher die Verwendung von Verbindungen der Formel I



und/oder alle stereoisomeren Formen der Verbindung der Formel I und/oder
Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch
verträgliches Salz der Verbindung der Formel I zur Herstellung eines Arzneimittels
zur Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen, an deren Verlauf eine verstärkte
Aktivität von Matrix-Metalloproteinase 13 beteiligt ist, wobei
A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. -(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach
substituiert ist durch Halogen,
4. -O-(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder
dreifach substituiert ist durch Halogen,
5. -C(O)-O-R₄, worin R₄ Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl bedeutet,
6. -CN,
7. -N(R₅)(R₆), worin R₅ und R₆ gleich oder verschieden sind und
unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,
- 5 8. $-OH$,
9. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
10. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
11. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, stehen,
- R2 für 1. Wasserstoffatom,
- 10 2. Halogen,
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
4. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
6. $-CN$,
- 15 7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander
 1. Wasserstoffatom,
 2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 - 20 4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,
 8. $-OH$,
 9. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 10. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 11. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, steht
 - 25 oder

R_1 und R_2 oder R_2 und R_3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und

30 der andere Rest R_1 oder R_3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 11. hat.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

- 5 1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. -(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. -O-(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder
- 10 dreifach substituiert ist durch Halogen, stehen,

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Halogen,
3. -O-(C₁-C₄)-Alkyl oder
4. -(C₁-C₄)-Alkyl steht, oder

15

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und

20 der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 4. hat.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

25 R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. Chlor,
3. Fluor,
4. Trifluormethyl,
- 30 5. Methoxyl,
6. Methyl,
7. -C(O)-OH,
8. -C(O)-O-CH₃,
9. -CN,

10. $-\text{NH}_2$,
 11. $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$,
 12. $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$,
 13. $-\text{N}-(\text{CH}_3)_2$,
 14. $-\text{SO}_2-\text{NH}_2$,
 15. $-\text{OH}$,
 16. $-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CHF}_2)$,
 17. $-\text{S}-\text{CH}_3$,
 18. $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$,
 19. $-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ oder
 20. Brom, stehen,
 R2 für 1. Wasserstoffatom,
 2. Chlor,
 3. Fluor,
 4. Methoxyl,
 5. Methyl,
 6. Brom,
 7. $-\text{C}(\text{O})-\text{OH}$,
 8. $-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{CH}_3$,
 9. $-\text{CN}$,
 10. $-\text{NH}_2$,
 11. $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_3$,
 12. $-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$,
 13. $-\text{N}-(\text{CH}_3)_2$,
 14. $-\text{SO}_2-\text{NH}_2$,
 15. $-\text{OH}$,
 16. $-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CHF}_2)$,
 17. $-\text{S}-\text{CH}_3$,
 18. $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ oder
 19. $-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 20. hat.

5 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,

10 2. Chlor,

3. Fluor,

4. Trifluormethyl,

5. Methoxyl, oder

6. Methyl, stehen,

15 R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,

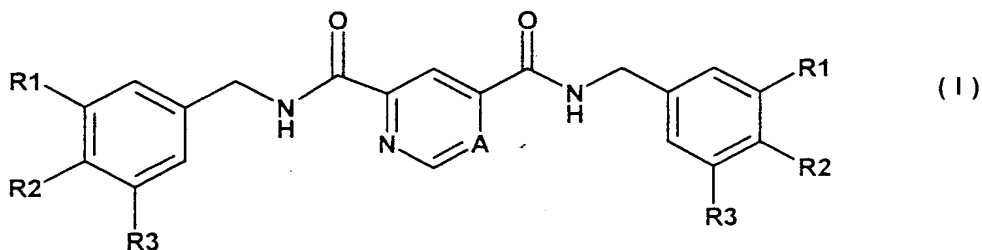
3. Fluor,

4. Methoxyl oder

5. Methyl steht, oder

20 R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I,



25 und/oder alle stereoisomere Formen der Verbindung der Formel I und/oder Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. $-OH$,
5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
6. $-CN$,
7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
 2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,
 8. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 9. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 10. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, stehen,
- worin R_1 , R_2 und R_3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Halogen,
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
4. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
6. $-CN$,
7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander
1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,

8. -OH,
9. -S-(C₁-C₄)-Alkyl,
10. -S(O)-(C₁-C₄)-Alkyl, oder
11. -S(O)₂-R₇, worin R₇ -(C₁-C₄)-Alkyl, -OH oder -NH₂ bedeutet, steht

5 oder

R₁ und R₂ oder R₂ und R₃ zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und

10 der andere Rest R₁ oder R₃ für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. -(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. -O-(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
5. -C(O)-O-R₄, worin R₄ Wasserstoffatom oder -(C₁-C₄)-Alkyl bedeutet,
6. -CN,
7. -N(R₅)(R₆), worin R₅ und R₆ gleich oder verschieden sind und

20 unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
2. -(C₁-C₄)-Alkyl,
3. -C(O)-(C₁-C₄)-Alkyl oder
4. -SO₂-(C₁-C₄)-Alkyl bedeuten,

- 25 8. -OH,
9. -S-(C₁-C₄)-Alkyl,
10. -S(O)-(C₁-C₄)-Alkyl oder
11. -S(O)₂-R₇, worin R₇ -(C₁-C₄)-Alkyl, -OH oder -NH₂ bedeutet, steht.

30 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I, wobei A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht, R₁ und R₃ gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,
3. Fluor,
4. Trifluormethyl,
5. Methoxyl,
- 5 6. Methyl,
7. -C(O)-OH ,
8. -C(O)-O-CH_3 ,
9. -CN ,
10. -NH_2 ,
- 10 11. -NH-C(O)-CH_3 ,
12. $\text{-NH-SO}_2\text{-CH}_3$,
13. $\text{-N(CH}_3)_2$,
14. $\text{-SO}_2\text{-NH}_2$,
15. -OH ,
- 15 16. $\text{-O-CH}_2\text{-(CHF}_2\text{)}$,
17. -S-CH_3 ,
18. -S(O)-CH_3 ,
19. $\text{-S(O)}_2\text{-CH}_3$ oder
20. Brom, stehen,
- 20 worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und
- R2 für 1. Wasserstoffatom,
2. Chlor,
3. Fluor,
4. Methoxyl,
- 25 5. Methyl,
6. Brom,
7. -C(O)-OH ,
8. -C(O)-O-CH_3 ,
9. -CN ,
- 30 10. -NH_2 ,
11. -NH-C(O)-CH_3 ,
12. $\text{-NH-SO}_2\text{-CH}_3$,

13. $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$,
14. $-\text{SO}_2\text{-NH}_2$,
15. $-\text{OH}$,
16. $-\text{O-CH}_2\text{-(CHF}_2\text{)}$,
- 5 17. $-\text{S-CH}_3$,
18. $-\text{S(O)-CH}_3$ oder
19. $-\text{S(O)}_2\text{-CH}_3$, steht, oder

10 R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 20. hat.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I, und/oder alle stereoisomere Formen der Verbindung der Formel I und/oder
15 Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

- 20 R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für
1. Wasserstoffatom,
 2. $-(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-Alkyl}$, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, oder
 3. $-\text{O}-(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-Alkyl}$, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist
25 durch Halogen, stehen,
- worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und
- R2 für 1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
 3. $-\text{O}-(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-Alkyl}$ oder
 - 30 4. $-(\text{C}_1\text{-C}_4)\text{-Alkyl}$ steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt

ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und
der andere Rest R1 oder R3 für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, oder
4. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, steht.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom oder
 2. Trifluormethyl, stehen,
- worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

R2 für 1. Wasserstoffatom,

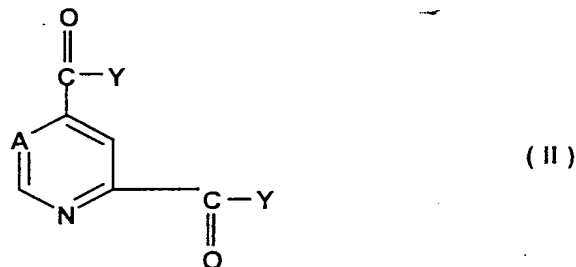
2. Chlor,
3. Fluor,
4. Methoxyl oder
5. Methyl steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und
der andere Rest R1 oder R3 für

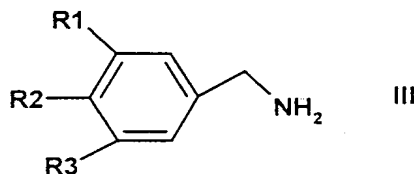
1. Wasserstoffatom,
2. Chlor,
3. Fluor,
4. Trifluormethyl,
5. Methoxyl, oder
4. Methyl, steht.

Unter dem Begriff "Halogen" wird Fluor, Chlor, Brom oder Jod verstanden. Unter dem Begriff "(C₁-C₄)-Alkyl" werden Kohlenwasserstoffreste verstanden, deren Kohlenstoffkette geradkettig oder verzweigt ist und 1 bis 4 Kohlenstoffatome enthält, beispielsweise Methyl, Ethyl, Propyl, i-Propyl, Butyl, oder tertiär-Butyl.

- 5 Unter dem Begriff "R₁ und R₂ oder R₂ und R₃ zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält" werden Reste verstanden die sich von Dioxolan, Pyrrol, Pyrrolidin, Pyridin, Piperidin, Tetrahydropyridin, Pyrazol, Imidazol, Pyrazolin, Imidazolin, Pyrazolidin, Imidazolidin, Pyridazin, Pyrimidin, Pyrazin, Piperazin, Pyran, Furan, Dihydrofuran, Tetrahydrofuran, Oxazol, Isoxazol, 2-Isloxazolin, Isoxazolidin, Morpholin, Oxothiolan, Thiopyran, Thiazol, Isothiazol, 2-Isythiazolin, Isothiazolidin oder Thiomorpholin ableiten lassen.
- 10
- 15 Die Verbindungen der Formel I lassen sich beispielsweise dadurch herstellen, dass man eine Verbindung der Formel II

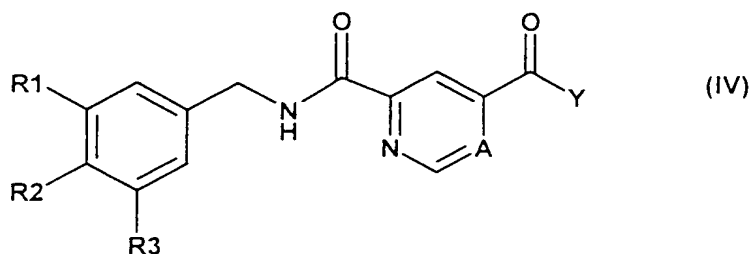


- a) mit einer Verbindung der Formel III



umsetzt, wobei R₁, R₂ und R₃ die in Formel I angegebenen Bedeutungen haben und Y Halogen, Hydroxy oder C₁-C₄-Alkoxy ist oder zusammen mit der Carbonylgruppe einen Aktivester oder ein gemischtes Anhydrid bildet, wobei eine Verbindung der Formel I gebildet wird und die Reaktionsprodukte gegebenenfalls in ihre physiologisch verträglichen Salze überführt, oder

- b) eine Verbindung der Formel II mit einer Verbindung der Formel III zu einer Verbindung der Formel IV.



umsetzt, wobei R1, R2 und R3 die in Formel I angegebenen Bedeutungen haben und Y Halogen, Hydroxy oder C₁-C₄-Alkoxy ist oder zusammen mit der Carbonylgruppe einen Aktivester oder ein gemischtes Anhydrid bildet und die Verbindung der Formel IV gegebenenfalls reinigt und anschließend mit einer Verbindung der Formel III in eine Verbindung der Formel I überführt.

Im Folgenden wird die Herstellung von Verbindungen gemäß Formel I und die Herstellung der dafür benötigten Ausgangssubstanzen – sofern sie nicht käuflich sind – näher beschrieben.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen gelingt am einfachsten dadurch, dass die beiden Komponenten, das Pyrimidin- oder Pyridin-Derivat gemäß Formel (II) und das Amin gemäß Formel (III) in äquimolaren Mengen oder bis zu einem etwa 5-fachen Überschuss an III zusammengegeben werden und bei Temperaturen zwischen -30 °C bis 150 °C, bevorzugt bei 20 °C bis 100 °C bis zur Beendigung der Reaktion umgesetzt werden. Bei der Herstellung der Verbindung der Formel IV wird das Amin gemäß Formel (III) bis zu einer äquimolaren Menge an der Verbindung der Formel III zusammengegeben und wie oben umgesetzt. Die Beendigung der Reaktion lässt sich beispielsweise mittels Dünnschichtchromatographie oder HPLC-MS bestimmen. Eine Variante dieses Verfahrens besteht darin, dass man in einem geeigneten Lösungsmittel, wie Diethylether, Dimethoxyethan oder Tetrahydrofuran, chlorierten Kohlenwasserstoffen wie Methylenchlorid, Chloroform, Tri- oder Tetrachlorethylen, Benzol, Toluol oder auch polaren Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, Aceton oder Dimethylsulfoxid arbeitet. Auch hier kann ein Überschuss von Amin gemäß Formel (III), der bis zur etwa 5-fachen Mengen betragen kann, angewandt werden. Die

Reaktionstemperaturen liegen dabei zwischen Raumtemperatur und dem Siedepunkt des Lösungsmittels, wobei Temperaturen im Bereich von Raumtemperatur bis 130 ° C besonders bevorzugt sind.

- 5 Ebenso kann die Umsetzung über ein gemischtes Anhydrid wie Chlorameisensäure-ethylester oder über einen aktiven Ester wie Paranitrophenylester ($Y = \text{ClCH}_2\text{-COO}$ oder $\text{NO}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O}$) erfolgen. Entsprechende Methoden sind in der Literatur beschrieben.
- 10 Gegebenenfalls kann die Umsetzung auch in Gegenwart von Basen erfolgen. Als zusätzliche Basen kommen beispielsweise Carbonate oder Hydrogencarbonate wie Natrium- oder Kaliumcarbonat oder Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat, oder tertiäre Amine, wie Triethylamin, Tributylamin, Ethyldiisopropylamin oder heterocyclische Amine wie N-Alkylmorpholin, Pyridin, Chinolin oder Dialkylaniline in Betracht.
- 15

- Gegebenenfalls kann die Aufarbeitung der Produkte, insbesondere die Verbindung der Formel IV, beispielsweise durch Extraktion oder Chromatographie z. B. über Kieselgel erfolgen. Das isolierte Produkt kann umkristallisiert und gegebenenfalls mit
- 20 einer geeigneten Säure zu einem physiologisch verträglichen Salz umgesetzt werden. Als geeignete Säuren kommen beispielsweise in Betracht:
Mineralsäuren, wie Chlorwasserstoff- und Bromwasserstoffsäure sowie Schwefel-, Phosphor-, Salpeter- oder Perchlorsäure oder organische Säuren wie Ameisen-, Essig-, Propion-, Bernstein-, Glykol-, Milch-, Äpfel-, Wein-, Zitronen-, Malein-,
25 Fumar-, Phenylessig-, Benzoe-, Methansulfon-, Toluolsulfon-, Oxal-, 4-Aminobenzoe-, Naphthalin-1,5-disulfon- oder Ascorbinsäure.

- Die Ausgangsverbindungen der Formel (III) können, soweit sie nicht käuflich sind, einfach synthetisiert werden (z. B. Organikum, Organisch Chemisches
- 30 Grundpraktikum, 15. Aufl., VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1976; eine Übersicht über die verschiedenen Möglichkeiten findet sich im Methodenregister, S. 822).

Die Ausgangsverbindungen der Formel (II) erhält man beispielsweise durch Umsetzung von Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure, bzw. Pyridin-2,4-dicarbonsäure, zu dem entsprechenden Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurehalogenid bzw. Pyridin-2,4-dicarbonsäurehalogenid, bevorzugt -chlorid (nach literaturbekannten Verfahren), vorzugsweise in Gegenwart eines Katalysators wie Dimethylformamid. Dieses Säurehalogenid kann dann beispielsweise entweder mit einem geeigneten Alkohol, z. B. Paranitrobenzylalkohol zu dem entsprechenden Aktivester, oder aber mit niederen Alkoholen wie Methanol oder Ethanol zu den entsprechenden Estern umgesetzt werden. Ebenso kann die Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure auch zunächst unter Zusatz einer geeigneten Carbonsäure oder eines Carbonsäureesters wie Chlorameisensäureäthylester in ein gemischtes Anhydrid überführt werden, welches dann mit den Aminen der Verbindung der Formeln (III) und (IV) zu den erfindungsgemäßen Produkten umgesetzt wird. Eine entsprechende Methode ist ebenfalls in der Literatur beschrieben.

Die Herstellung der Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure erfolgt nach literaturbekannten Verfahren, beispielsweise durch Oxidation von 4,6-Dimethylpyrimidin, welches seinerseits beispielsweise erhältlich ist durch katalytische Hydrierung von käuflich erhältlichem 2-Mercapto-4,6-dimethylpyrimidin.

Sofern Verbindungen der Formel I diastereoisomere oder enantiomere Formen zulassen und bei der gewählten Synthese als deren Gemische anfallen, gelingt die Trennung in die reinen Stereoisomeren entweder durch Chromatographie an einem gegebenenfalls chiralen Trägermaterial, oder, sofern die racemische Verbindung der Formel I zur Salzbildung befähigt ist, durch fraktionierte Kristallisation der mit einer optisch aktiven Base oder Säure als Hilfsstoff gebildeten diastereomeren Salze. Als chirale Stationärphasen für die dünnschicht- oder säulenchromatographische Trennung von Enantiomeren eignen sich zum Beispiel modifizierte Kieselgelträger (sogenannte Pirkle-Phasen) sowie hochmolekulare Kohlenhydrate wie Triacetylcellulose. Für analytische Zwecke sind nach entsprechender, dem Fachmann bekannter Derivatisierung, auch gaschromatographische Methoden an chiralen Stationärphasen anwendbar. Zur Enantiomerentrennung der racemischen Carbonsäuren werden mit einer optisch aktiven, in der Regel kommerziell erhältlichen Base wie (-)-Nicotin, (+)- und (-)-Phenylethylamin, Chininbasen, L-Lysin

oder L- und D-Arginin die unterschiedlich löslichen diastereomeren Salze gebildet, die schwerer lösliche Komponente als Feststoff isoliert, das leichter lösliche Diastereomer aus der Mutterlauge abgeschieden, und aus den so gewonnenen diastereomeren Salzen die reinen Enantiomeren gewonnen. Auf prinzipiell gleiche

- 5 Weise kann man die racemischen Verbindungen der Formel I, die eine basische Gruppe wie eine Aminogruppe enthalten, mit optisch aktiven Säuren, wie (+)-Campher-10-sulfonsäure, D- und L- Weinsäure, D- und L- Milchsäure sowie (+) und (-)-Mandelsäure in die reinen Enantiomeren überführen. Auch kann man chirale Verbindungen, die Alkohol- oder Aminfunktionen enthalten, mit entsprechend
- 10 aktivierten oder gegebenenfalls N- geschützten enantiomerenreinen Aminosäuren in die entsprechenden Ester oder Amide, oder umgekehrt chirale Carbonsäuren mit carboxygeschützten enantiomerenreinen Aminosäuren in die Amide oder mit
- 15 enantiomerenreinen Hydroxycarbonsäuren wie Milchsäure, in die entsprechenden chiralen Ester überführen. Sodann kann die Chiralität des in enantiomerenreiner Form eingebrachten Aminosäure- oder Alkoholrestes zur Trennung der Isomeren genutzt werden, indem man eine Trennung der nunmehr vorliegenden Diastereomeren durch Kristallisation oder Chromatographie an geeigneten Stationärphasen vornimmt und danach den mitgeführten chiralen Molekülteil mittels geeigneter Methoden wieder abspaltet.

20

Saure oder basische Produkte der Verbindung der Formel I können in Form ihrer Salze oder in freier Form vorliegen. Bevorzugt sind pharmakologisch verträgliche Salze, z. B. Alkali- oder Erdalkalimetallsalze bzw. Hydrochloride, Hydrobromide, Sulfate, Hemisulfate, alle möglichen Phosphate sowie Salze der Aminosäuren,

25 natürlicher Basen oder Carbonsäuren.

- Die Herstellung physiologisch verträglicher Salze aus zur Salzbildung befähigten Verbindungen der Formel I, einschließlich deren stereoisomeren Formen, erfolgt in an sich bekannter Weise. Die Carbonsäuren und Hydroxamsäuren bilden mit
- 30 basischen Reagenzien wie Hydroxiden, Carbonaten, Hydrogencarbonaten, Alkoholaten sowie Ammoniak oder organischen Basen, beispielsweise Trimethyl- oder Triethylamin, Ethanolamin oder Triethanolamin oder auch basischen Aminosäuren, etwa Lysin, Ornithin oder Arginin, stabile Alkali-, Erdalkali- oder gegebenenfalls substituierte Ammoniumsalze. Sofern die Verbindungen der Formel I

basische Gruppen aufweist, lassen sich mit starken Säuren auch stabile Säureadditionssalze herstellen. Hierfür kommen sowohl anorganische als auch organische Säuren, wie Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Schwefel-, Phosphor-, Methansulfon-, Benzolsulfon-, p-Toluolsulfon-, 4-Brombenzol-sulfon-,

- 5 Cyclohexylamid-sulfon-, Trifluormethylsulfon-, Essig-, Oxal-, Wein-, Bernstein- oder Trifluoressigsäure in Frage.

- 10 Aufgrund der pharmakologischen Eigenschaften eignen sich die Verbindungen der Formel I zur Prophylaxe und Therapie all solcher Erkrankungen, an deren Verlauf eine verstärkte Aktivität von Matrix-Metalloproteinase 13 beteiligt ist.

- Dazu gehören degenerative Gelenkerkrankungen wie Osteoarthrosen, Spondylosen, Knorpelschwund nach Gelenktrauma oder längerer Gelenksruhigstellung nach Meniskus- oder Patellaverletzungen oder Bänderrissen. Ferner gehören dazu auch
- 15 Erkrankungen des Bindegewebes wie Kollagenosen, Periodontalerkrankungen, Wundheilungsstörungen und chronische Erkrankungen des Bewegungsapparates wie entzündliche, immunologisch oder stoffwechselbedingte akute und chronische Arthritiden, Arthropathien, Myalgien und Störungen des Knochenstoffwechsels.

- 20 Die Applikation der erfindungsgemäßen Arzneimittel kann durch subkutane, intraartikuläre, intraperitoneale oder intravenöse Injektion erfolgen. Bevorzugt ist die intraartikuläre Injektion. Die rektale, orale, inhalative oder transdermale Applikation ist auch möglich.

- 25 Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, das dadurch gekennzeichnet, dass man mindestens eine Verbindung der Formel I mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete Darreichungsform bringt.

- 30 Die Verbindungen der Formel I werden mit den dafür geeigneten Zusatzstoffen wie Trägerstoffen, Stabilisatoren oder inerten Verdünnungsmitteln vermischt und durch die üblichen Methoden in geeignete Darreichungsformen gebracht, wie Tabletten, Dragees, Steckkapseln, wässrige alkoholische oder ölige Suspensionen oder

wässrige oder ölige Lösungen. Als inerte Trägerstoffe können z. B. Gummi arabicum, Magnesia, Magnesiumcarbonat, Kaliumphosphat, Milchzucker, Glukose oder Stärke, insbesondere Maisstärke, verwendet werden. Dabei kann die Zubereitung sowohl als Trocken- als auch als Feuchtgranulat erfolgen. Als ölige

- 5 Trägerstoffe oder Lösemittel kommen beispielsweise pflanzliche oder tierische Öle in Betracht, wie Sonnenblumenöl oder Lebertran.

Zur subkutanen, intraartikulären, intraperitonealen oder intravenösen Applikation werden die aktiven Verbindungen gewünschtenfalls mit den dafür geeigneten

- 10 Substanzen wie Lösungsvermittler, Emulgatoren oder weiteren Hilfsstoffen in Lösung, Suspension oder Emulsion gebracht. Als Lösungsmittel kommen z. B. in Frage physiologische Kochsalzlösung oder Alkohole, z. B. Ethanol, Propanol, Glycerin, daneben auch Zuckerlösungen wie Glukose- oder Mannitlösungen, oder auch eine Mischung aus den verschiedenen genannten Lösungsmitteln.

- 15 Ferner finden übliche Hilfsmittel, wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung. Als häufig verwendete Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, 20 Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglykol und Lösungsmittel wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole wie Glycerin, genannt.

- 25 Die Verbindungen der Formel I werden bevorzugt als pharmazeutische Präparate in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine bestimmte Dosis der Verbindung der Formel I enthält. Sie können zu diesem Zweck oral in Dosen von 0,01 mg/kg/Tag bis 25,0 mg/kg/Tag, vorzugsweise 0,01 mg/kg/Tag bis 5,0 mg/kg/Tag oder parenteral in Dosen von 0,001 30 mg/kg/Tag bis 5 mg/kg/Tag, vorzugsweise 0,001 mg/kg/Tag bis 2,5 mg/kg/Tag, appliziert werden. Die Dosierung kann in schweren Fällen auch erhöht werden. In vielen Fällen genügen jedoch auch geringere Dosen. Diese Angaben beziehen sich auf einen Erwachsenen von etwa 75 kg Gewicht.

Nachfolgend ist die Erfindung an Hand von Beispielen näher erläutert.

Beispiel 1:

5 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-dibenzylamid (Formel I: $R_1 = R_2 = H$)

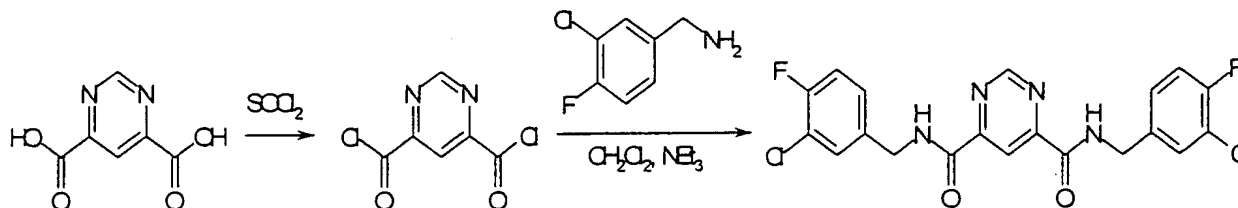
1,7 g Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure werden in 20 ml Toluol suspendiert und 2,4 g Thionylchlorid und 0,2 ml Dimethylformamid zugegeben. Der Ansatz wird zum Rückfluss erhitzt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten ist (etwa 3 Stunden
10 (h)). Etwa 5 ml Lösungsmittel werden abdestilliert, der Ansatz auf 0 °C bis 10 °C abgekühlt und mit 2,7 g Benzylamin, gelöst in 10 ml Toluol, versetzt. Die Lösung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt, 12 Stunden bei
Raumtemperatur gerührt und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit 50 ml Methylenchlorid aufgenommen, 3 mal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-
15 Lösung ausgeschüttelt, die organische Phase mit Wasser gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft.

Der Festkörper wird aus Diisopropylether umkristallisiert. Ausbeute: 2,1 g; Fp.: 131°C bis 132 °C.

20

Beispiel 2:

Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure bis-(3-chloro-4-fluorobenzylamid) (Formel I: $R_1 = Cl$; $R_2 = F$)



25

200 mg (1,2 mmol) Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure wurden in 0,3 ml (4,1 mmol) Thionylchlorid suspendiert. Diese Mischung wurde unter Rühren für 2 h auf 85 °C geheizt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 2 ml absolutes
30 Dichlormethan zugegeben. Die Suspension wurde auf 0 °C gekühlt und 0,33 ml (2,4

mmol) Triethylamin wurden zugesetzt. 861 mg (5,4 mmol) 3-Chloro-4-fluorobenzylamin wurden unter heftigem Rühren zugefügt. Die Mischung wurde weitere 15 Minuten gerührt. Dann wurde mit 10 ml Dichlormethan verdünnt und 10 ml Wasser zugesetzt. Nach 5 Minuten wurde die Mischung in einen Scheidetrichter überführt

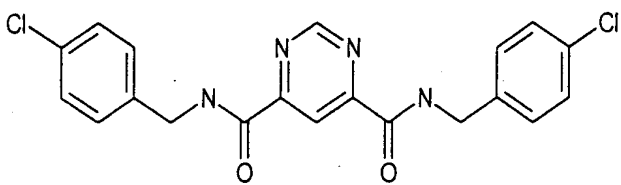
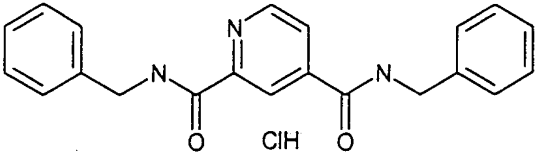
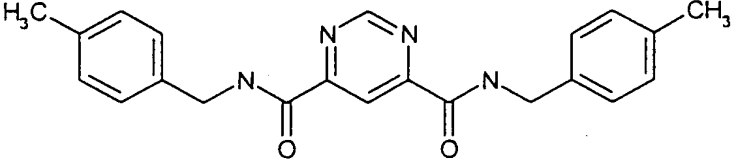
und die Phasen wurden getrennt. Die organische Phase wurde zweimal mit gesättigter Kochsalzlösung extrahiert und nachfolgend über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach der Filtration wurde das Filtrat unter verminderten Druck eingeeengt und der so erhaltene Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst. Durch Zugabe von Heptan wurde das Produkt aus der Lösung kristallisiert. Beigefarbene Blättchen wurden erhalten und unter verminderten Druck getrocknet.

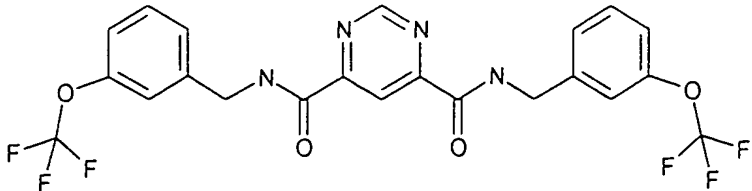
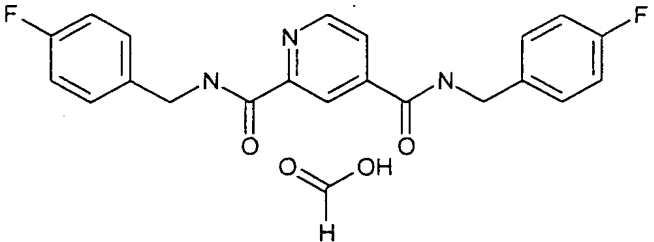
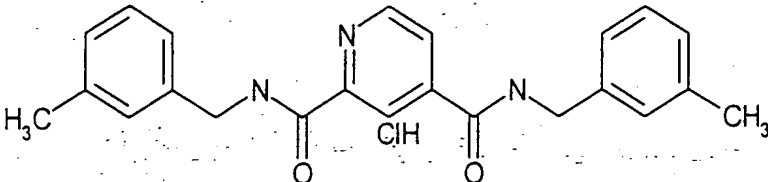
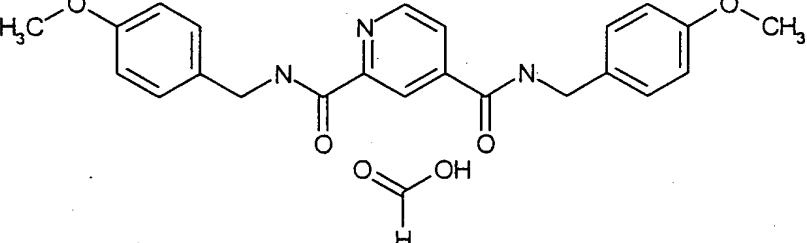
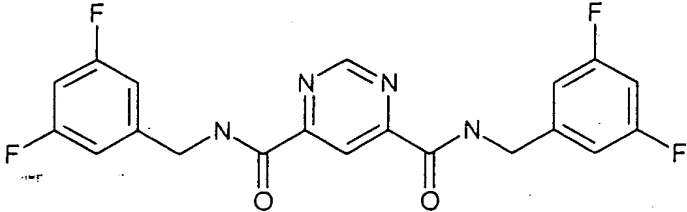
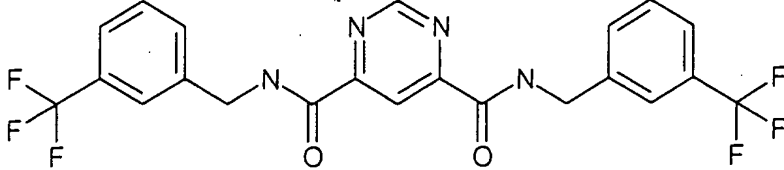
Ausbeute: 263 mg (49 %)



Analog zu Beispiel 2 wurden die nachfolgenden Verbindungen hergestellt.

Tabelle 1:

Beispiel	Struktur	MS (ESI+)
3		415,13
4		346,27
5		375,26

6		515,21
7		382,21
8		374,25
9		406,31
10		419,22
11		483,24

12	 <chem>Clc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(Cl)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	414,15
13	 <chem>FC(F)(F)c1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(C(F)(F)F)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	560,18 (M+MeCN)
14	 <chem>Fc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(F)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	383,17
15	 <chem>Fc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(F)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	383,15
16	 <chem>Fc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(F)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	419,02
17	 <chem>COc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(OC)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	407,23
18	 <chem>Cc1ccc(cc1)CN(C(=O)c2ccncc2C(=O)Nc3ccc(C)cc3)C(=O)c4ccncc4</chem>	375,13

19		415,06
20		435,22
21		407,30
22		431,06
23		411,25

Beispiel 24 Pyrimidin-4,6-dicarbonsäuredimethylester

10 g (0,059 mol) Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure wurde in 1,4 L Methanol suspendiert, mit 10,93 mL (0,356 mol) konzentrierter Salzsäure versetzt und 3 Stunden (h) am Rückfluss (65 °C) gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde unter verminderten Druck eingeeengt, nochmals in Methanol aufgenommen, filtriert und die erhaltene Lösung wurde eingeeengt.

Ausbeute 11,02 g (94,4 %)

MS (ES⁺): m/e= 197,20

2,55 g (0,01299 mol) der erhaltenen Verbindung Pyrimidin-4,6-dicarbonsäuredimethylester wurden in 100 mL Dimethylformamid (DMF) gelöst, mit 1,42 mL (0,01299 mol) Benzylamin versetzt und auf 50 °C erwärmt. Nach 4 h wird die Lösung unter verminderten Druck eingeeengt. Der Rückstand wird über eine 500 ml

- 5 Kieselgelsäule mit Heptan/Essigester (1:1) chromatographiert. Fraktionen mit der Verbindung 6-Benzylcarbamoyle-pyrimidin-4-carbonsäuremethylester wurden eingeeengt. Ausbeute: 1,268 g (36 %) MS (ES⁺): m/e= 272,20

- 10 200 mg (0,737 mmol) der erhaltenen Verbindung 6-Benzylcarbamoyle-pyrimidin-4-carbonsäuremethylester wurden in 4 mL DMF gelöst, mit 225,98 mg (1,29 mmol) 3-Trifluormethyl-benzylamin versetzt und bei 50 °C 1 Tag gerührt. Danach wurde die Lösung unter verminderten Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC (Wasser/Acetonitril-Gradient, Purospher RP18) gereinigt. Fraktionen mit Pyrimidin-4,6-dicarbonsäure-4-benzylamid-6-(3-trifluormethyl-
15 benzylamid) wurden unter vermindertem Druck eingeeengt und gefriergetrocknet. Ausbeute: 240 mg (79 %) MS (ES⁺): m/e= 415,27

In analoger Weise wurden die folgenden Verbindungen hergestellt:

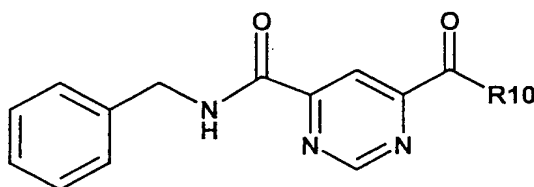


Tabelle 2

Beispiel	Rest R10	MS (ES ⁺): m/e
25	3-Fluorbenzylamin	365,23
26	4-Fluorbenzylamin	365,23
27	3,4-Difluorbenzylamin	383,27
28	4-Methoxybenzylamin	377,28
29	3-Methylbenzylamin	361,28
30	3-Chlorbenzylamin	381,23

Pharmakologische Beispiele

Bestimmung der enzymatischen Aktivität der katalytischen Domäne der humanen Kollagenase -3 (MMP-13).

- 5 Dieses Protein wird als inaktives Pro-Enzym von der Fa. INVITEK, Berlin, erhalten (Katalog Nr. 30 100 803). Aktivierung des Proenzym:
2 Volumenanteile Proenzym werden mit 1 Volumenanteil APMA-Lösung bei 37 °C für 1,5 Stunden inkubiert. Die APMA-Lösung wird aus einer 10 mmol/L p-Aminophenyl-Mercuric Acetate Lösung in 0,1 mmol/L NaOH durch Verdünnen mit 3
- 10 Volumenteile Tris/HCl Puffer pH7,5 (siehe unten) hergestellt. Der pH-Wert wird durch Zugabe von 1mmol/L HCl zwischen 7,0 und 7,5 eingestellt. Nach der Aktivierung des Enzyms wird dieses mit dem Tris/HCl Puffer auf eine Konzentration von 1,67 µg/mL verdünnt.
- 15 Zur Messung der Enzymaktivität werden 10 µL Enzymlösung mit 10 µL einer 3%igen (v/v) gepufferten Dimethylsulfoxid-Lösung (Reaktion 1) für 15 Minuten inkubiert. Zur Messung der Enzyminhibitoraktivität werden 10 µL Enzymlösung mit 10 µL einer 3%igen (v/v) gepufferten Dimethylsulfoxid-Lösung, die den Enzyminhibitor enthält, inkubiert (Reaktion 2).
- 20 Sowohl bei Reaktion 1 als auch bei Reaktion 2 wird nach Zugabe von 10 µL einer 3%igen (v/v) wässrigen Dimethylsulfoxid-Lösung, die 0,75 mmol/L des Substrates enthält, die Enzymreaktion fluoreszenzspektroskopisch verfolgt (328 nm (Extinktion) / 393 nm(Emission)).
- 25 Die Enzymaktivität wird dargestellt als Extinktionszunahme/Minute.
Die Inhibitorwirkung wird als prozentuale Hemmung nach folgender Formel berechnet:
$$\% \text{ Hemmung} = 100 - \left[\frac{(\text{Extinktionszunahme/Minute in Reaktion 2})}{(\text{Extinktionszunahme/Minute in Reaktion 1}) \times 100} \right]$$
- 30 Der IC₅₀, d.h. die für eine 50%ige Hemmung der Enzymaktivität erforderliche Inhibitorkonzentration wird grafisch durch Auftragen der prozentualen Hemmungen bei verschiedenen Inhibitorkonzentrationen ermittelt.

Die Pufferlösung enthält 0,05% Brij (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) sowie 0,1 mol/L Tris/HCl, 0,1 mol/L NaCl, 0,01 mol/L CaCl_2 (pH=7,5).

Die Enzymlösung enthält 1,67 µg/mL der Enzymdomäne.

Die Substratlösung enthält 0,75 mmol/L des fluorogenen Substrates (7-

- 5 Methoxycoumarin-4-yl)acetyl-Pro-Leu-Gly-Leu-3-(2',4'-dinitrophenyl)-L-2,3-diaminopropionyl-Ala-Arg-NH₂ (Bachem, Heidelberg, Deutschland).

Die nachfolgende Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse.

Tabelle 3

10

Beispiel	IC50 MMP13 (nM)	Beispiel	IC50 MMP13 (nM)	Beispiel	IC50 MMP13 (nM)
1	400	10	300	19	57
2	23	11	300	20	14
3	5600	12	260	21	10
4	3400	13	210	22	9
5	2000	14	200	23	8
6	700	15	190		
7	620	16	105		
8	400	17	80		
9	320	18	72		



Vergleichsbeispiel

15

Die Verbindung Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediethylamid wurde hergestellt wie in EP 0418797 beschrieben. Bei der Bestimmung des IC₅₀-Wertes für die Inhibition der humanen Kollagenase -3 (MMP-13) wie im obengenannten Beispiel beschrieben ergibt sich ein Wert von 90 000 nM. Damit ist diese Verbindung praktisch unwirksam bei der Inhibition von MMP 13.

20

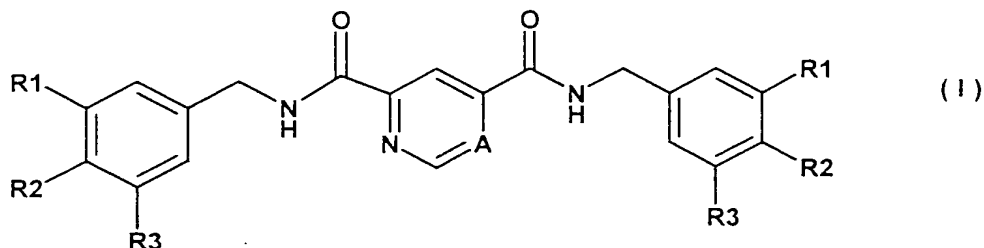
Bestimmung der enzymatischen Aktivität der katalytischen Domäne der humanen Neutrophilen-Kollagenase (MMP-8) und des humanen Stromelysins (MMP-3).

- 5 Die Enzyme humane Neutrophilen-Kollagenase und humanes Stromelysin wurden wie in Weithmann et al Inflamm Res, 46 (1997), Seiten 246-252, beschrieben, als aktive katalytische Domänen hergestellt, durchgeführt. Die Messung der Enzymaktivität sowie die Bestimmung der inhibitorischen Wirkung von Hemmstoffen auf die Enzymaktivität erfolgte ebenfalls wie dort beschrieben.
- 10 Die Verbindungen gemäß der obengenannten Beispiele 1 bis 23 zeigten bei der Bestimmung der humanen Neutrophilen-Kollagenase und des humanen Stromelysins jeweils IC₅₀-Werte von mehr als 100000 nM. Damit sind diese Verbindungen praktisch unwirksam bei der Inhibition von MMP 3 und 8.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I,

5



und/oder alle stereoisomere Formen der Verbindung der Formel I und/oder Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

10

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

15

1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, oder
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. $-OH$,
5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
6. $-CN$,
7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander
 1. Wasserstoffatom,
 2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,
8. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
9. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
10. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, stehen, worin R_1 , R_2 und R_3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

20

25

- R2 für 1. Wasserstoffatom,
 2. Halogen,
 3. $-O-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$,
 4. $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$,
 5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$ bedeutet,
 6. $-CN$,
 7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
 2. $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$,
 3. $-C(O)-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$ oder
 4. $-SO_2-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$ bedeuten,

8. $-OH$,
 9. $-S-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$,
 10. $-S(O)-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$, oder
 11. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, steht oder

R_1 und R_2 oder R_2 und R_3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und der andere Rest R_1 oder R_3 für

1. Wasserstoffatom,
 2. Halogen,
 3. $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
 4. $-O-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
 5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)\text{-Alkyl}$ bedeutet,
 6. $-CN$,
 7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
 2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,
 - 5 8. $-OH$,
 9. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
 10. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
 11. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, steht.
- 10 2. Verbindung der Formel I gemäß Anspruch 1, wobei
A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,
R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für
1. Wasserstoffatom,
 2. Chlor,
 - 15 3. Fluor,
 4. Trifluormethyl,
 5. Methoxyl,
 6. Methyl,
 7. $-C(O)-OH$,
 - 20 8. $-C(O)-O-CH_3$,
 9. $-CN$,
 10. $-NH_2$,
 11. $-NH-C(O)-CH_3$,
 12. $-NH-SO_2-CH_3$,
 - 25 13. $-N-(CH_3)_2$,
 14. $-SO_2-NH_2$,
 15. $-OH$,
 16. $-O-CH_2-(CHF_2)$,
 17. $-S-CH_3$,
 - 30 18. $-S(O)-CH_3$,
 19. $-S(O)_2-CH_3$ oder
 20. Brom, stehen,

worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,

3. Fluor,

4. Methoxyl,

5. Methyl,

6. Brom,

7. $-C(O)-OH$,

8. $-C(O)-O-CH_3$,

9. $-CN$,

10. $-NH_2$,

11. $-NH-C(O)-CH_3$,

12. $-NH-SO_2-CH_3$,

13. $-N-(CH_3)_2$,

14. $-SO_2-NH_2$,

15. $-OH$,

16. $-O-CH_2-(CHF_2)$,

17. $-S-CH_3$,

18. $-S(O)-CH_3$ oder

19. $-S(O)_2-CH_3$, steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und

der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 20. hat.

3. Verbindung der Formel I gemäß der Ansprüche 1 oder 2, und/oder alle stereoisomere Formen der Verbindung der Formel I und/oder Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, oder
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, stehen,

worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Halogen,

3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder

4. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe

Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und

der andere Rest R1 oder R3 für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, oder
4. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, steht.

4. Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom oder

2. Trifluormethyl, stehen,

worin R1, R2 und R3 nicht gleichzeitig Wasserstoffatom sind, und

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,
3. Fluor,
4. Methoxyl oder
5. Methyl steht, oder

5

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und

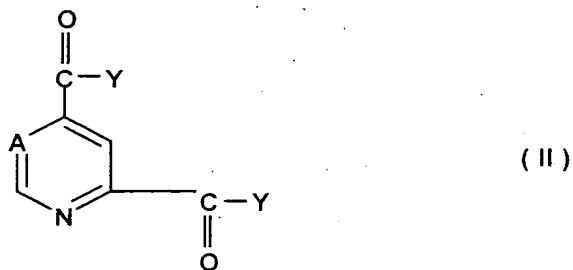
der andere Rest R1 oder R3 für

10

1. Wasserstoffatom,
2. Chlor,
3. Fluor,
4. Trifluormethyl,
5. Methoxyl, oder
4. Methyl, steht.

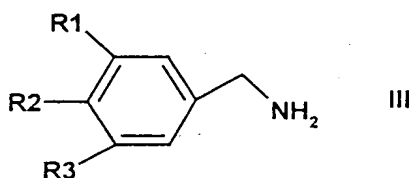
15

5. Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel II



20

- a) mit einer Verbindung der Formel III

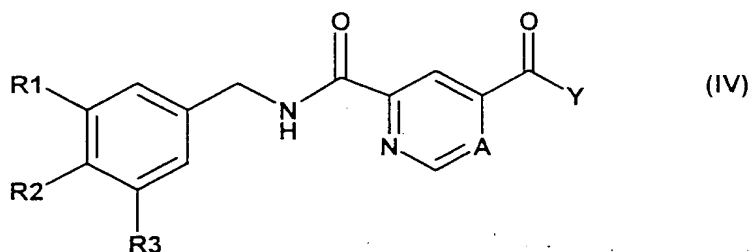


umsetzt, wobei R1, R2 und R3 die in Formel I gemäß Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und Y Halogen, Hydroxy oder C₁-C₄-Alkoxy ist oder zusammen mit der Carbonylgruppe einen Aktivester oder ein gemischtes Anhydrid bildet, wobei eine Verbindung

25

der Formel I gebildet wird und die Reaktionsprodukte gegebenenfalls in ihre physiologisch verträglichen Salze überführt, oder

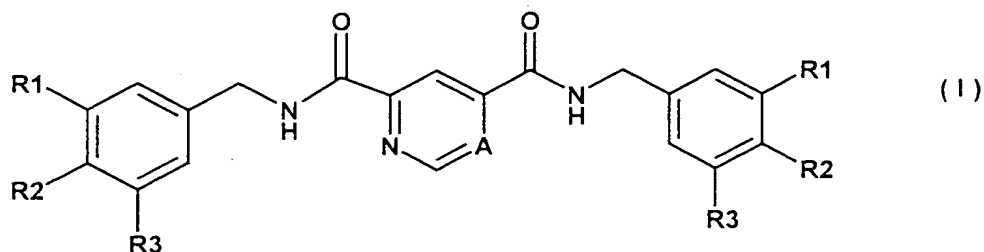
- b) eine Verbindung der Formel II mit einer Verbindung der Formel III zu einer Verbindung der Formel IV.



umsetzt, wobei R1, R2 und R3 die in Formel I gemäß Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben und Y Halogen, Hydroxy oder C₁-C₄-Alkoxy ist oder zusammen mit der Carbonylgruppe einen Aktivester oder ein gemischtes Anhydrid bildet, und anschließend die erhaltene Verbindung der Formel IV gegebenenfalls reinigt und anschließend mit einer Verbindung der Formel III in eine Verbindung der Formel I überführt.

6. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt von mindestens einer Verbindung der Formel I gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zusammen mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Trägerstoff, Zusatzstoff und/oder anderen Wirk- und Hilfsstoffen.

7. Verwendung der Verbindung der Formel I



und/oder alle stereoisomere Formen der Verbindung der Formel I und/oder Gemische diese Formen in jedem Verhältnis, und/oder ein physiologisch verträgliches Salz der Verbindung der Formel I

zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen, an deren Verlauf eine verstärkte Aktivität von Matrix-Metalloproteinase 13 beteiligt ist, wobei

5

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
- 10 3. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
- 15 6. $-CN$,
7. $-N(R_5)(R_6)$, worin R_5 und R_6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
2. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 20 3. $-C(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl oder
4. $-SO_2-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeuten,

8. $-OH$,
9. $-S-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
10. $-S(O)-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 25 11. $-S(O)_2-R_7$, worin R_7 $-(C_1-C_4)$ -Alkyl, $-OH$ oder $-NH_2$ bedeutet, stehen,

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Halogen,
3. $-O-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
4. $-(C_1-C_4)$ -Alkyl,
- 30 5. $-C(O)-O-R_4$, worin R_4 Wasserstoffatom oder $-(C_1-C_4)$ -Alkyl bedeutet,
6. $-CN$,

7. -N(R5)(R6), worin R5 und R6 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander

1. Wasserstoffatom,
2. -(C₁-C₄)-Alkyl,
3. -C(O)-(C₁-C₄)-Alkyl oder
4. -SO₂-(C₁-C₄)-Alkyl bedeuten,

8. -OH,

9. -S-(C₁-C₄)-Alkyl,

10. -S(O)-(C₁-C₄)-Alkyl,

11. -S(O)₂-R7, worin R7 -(C₁-C₄)-Alkyl, -OH oder -NH₂ bedeutet,

steht oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 11. hat.

8. Verwendung gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung der Formel I eingesetzt wird, wobei

A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,
2. Halogen,
3. -(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen,
4. -O-(C₁-C₄)-Alkyl, worin Alkyl unsubstituiert oder ein-, zwei- oder dreifach substituiert ist durch Halogen, stehen,

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Halogen,

3. -O-(C₁-C₄)-Alkyl oder

4. -(C₁-C₄)-Alkyl steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen 5- oder 6-gliedrigen Ring bilden, der aromatisch oder gesättigt ist und Null, ein oder zwei Heteroatome aus der Reihe Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthält und
 5 der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 4. hat.

9. Verwendung gemäß der Ansprüche 7 und 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung der Formel I eingesetzt wird, wobei
 A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht,

10 R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für

1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,

3. Fluor,

4. Trifluormethyl,

15 5. Methoxyl,

6. Methyl,

7. $-C(O)-OH$,

8. $-C(O)-O-CH_3$,

9. $-CN$,

20 10. $-NH_2$,

11. $-NH-C(O)-CH_3$,

12. $-NH-SO_2-CH_3$,

13. $-N-(CH_3)_2$,

14. $-SO_2-NH_2$,

25 15. $-OH$,

16. $-O-CH_2-(CHF_2)$,

17. $-S-CH_3$,

18. $-S(O)-CH_3$,

19. $-S(O)_2-CH_3$ oder

30 20. Brom, stehen,

R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,

3. Fluor,

- 5
4. Methoxyl,
 5. Methyl,
 6. Brom,
 7. $-C(O)-OH$,
 8. $-C(O)-O-CH_3$,
 9. $-CN$,
 10. $-NH_2$,
 11. $-NH-C(O)-CH_3$,
 12. $-NH-SO_2-CH_3$,
 - 10 13. $-N-(CH_3)_2$,
 14. $-SO_2-NH_2$,
 - 15 15. $-OH$,
 16. $-O-CH_2-(CHF_2)$,
 17. $-S-CH_3$,
 18. $-S(O)-CH_3$ oder
 19. $-S(O)_2-CH_3$, steht, oder

R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden und der andere Rest R1 oder R3 die obengenannte Bedeutung von 1. bis 20. hat.


10. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass eine Verbindung der Formel I eingesetzt wird, wobei A für ein Kohlenstoffatom oder Stickstoffatom steht, R1 und R3 gleich oder verschieden sind und unabhängig voneinander für
1. Wasserstoffatom,
 2. Chlor,
 3. Fluor,
 - 30 4. Trifluormethyl,
 5. Methoxyl, oder
 6. Methyl, stehen,
- R2 für 1. Wasserstoffatom,

2. Chlor,
3. Fluor,
4. Methoxyl oder
5. Methyl steht, oder

5 R1 und R2 oder R2 und R3 zusammen mit den Kohlenstoffatomen an die sie jeweils gebunden sind einen Dioxolan-, Dihydrofuran- oder Furan-Ring bilden.

11. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Erkrankungen, an deren Verlauf eine

10 verstärkte Aktivität von Matrix-Metalloproteinase 13 beteiligt ist, um die degenerativen Gelenkerkrankungen wie Osteoarthrosen, Osteoarthritis, Spondylosen, Knorpelschwund nach Gelenktrauma oder längerer

 Gelenksruhigstellung nach Meniskus- oder Patellaverletzungen oder Bänderrissen, Erkrankungen des Bindegewebes wie Kollagenosen,

15 Periodontalerkrankungen und Wundheilungsstörungen, chronische Erkrankungen des Bewegungsapparates wie entzündliche, immunologisch oder stoffwechselbedingte akute und chronische Arthritiden, Arthropathien, Myalgien und Störungen des Knochenstoffwechsels handelt.

20



Zusammenfassung

5

Verwendung von Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamiden und Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamiden zur selektiven Inhibierung von Kollagenasen

- 10 Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamiden und Pyrimidin-4,6-dicarbon-säurediamiden zur selektiven Inhibition der Kollagenase (MMP 13). Die Pyridin-2,4-dicarbonsäurediamide und Pyrimidin-4,6-dicarbonsäurediamide können daher zur Behandlung degenerativer Gelenkerkrankungen eingesetzt werden.